

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005年10月13日 (13.10.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/094850 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61K 35/20, A23L 1/30, 1/305, A61K 35/74, A61P 31/04 (74) 代理人: 清水 初志, 外(SHIMIZU, Hatsuhi et al.); 〒3000847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/006253

(22) 国際出願日: 2005年3月31日 (31.03.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-107031 2004年3月31日 (31.03.2004) JP

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 明治乳業株式会社 (MEIJI DAIRIES CORPORATION) [JP/JP]; 〒1368908 東京都江東区新砂1丁目2番10号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 桑久枝 (KUME, Hisae) [JP/JP]; 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 明治乳業株式会社研究本部内 Kanagawa (JP). 佐々木一 (SASAKI, Hajime) [JP/JP]; 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 明治乳業株式会社研究本部内 Kanagawa (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ANTIBACTERIAL COMPOSITION

(54) 発明の名称: 抗菌性組成物

(57) **Abstract:** It is intended to prevent contamination with the use of a food. As a candidate food, attention is given to an acidic fluid food which comprises an antibacterial fluid food having been acidified by adding a fermented milk product as a protein source. The antibacterial function of the acidic fluid food is compared with the antibacterial functions of the fermented milk product employed as the starting material and a neutral fluid food. Although it has been already known that fermented milk such as yogurt has an antibacterial function, the above-described acidic fluid food unexpectedly shows a stronger antibacterial function than the fermented milk product employed as the starting material on gram-positive bacteria such as MRSA which are important from the viewpoint of public health.

(57) 要約: 食物による感染防御の実現を目指した。候補食物として、抗菌力を有する流動食によりタンパク質源として発酵乳製品を含むために酸性となっている酸性流動食に着目した。該酸性流動食の抗菌性について、原料の発酵乳製品および中性の流動食の抗菌性と比較検討した。ヨーグルトなどの発酵乳に抗菌作用があることは既に知られているが、予想外なことに、該酸性流動食はMRSA等の公衆衛生上重要なグラム陽性菌に対し、原料である発酵乳製品よりも強い抗菌作用を示した。

WO 2005/094850 A1

明細書

抗菌性組成物

技術分野

[0001] 本発明は、抗菌活性を有する組成物に関する。

背景技術

[0002] 流動食は、経口的な栄養摂取が困難な場合や嚥下障害がある場合等に病院や老人施設等で広く使用されている。流動食は鼻腔、PEG (Percutaneous Endoscopic Gastrostomy) 等から挿入されたカテーテル、チューブを通じて体内に注入されるが、一般的に流動食利用者は高齢者や何らかの疾患を有する患者であり、免疫力が低下していることが多く、病原菌に感染しやすい。

[0003] このような易感染者が多い施設で感染が一度発生すると、時には、医療従事者等を通じて院内感染・施設内感染に発展することがある。院内感染防止対策への認識が高まってきているものの、高齢者の増加、耐性菌の出現等により院内感染の問題はますますクローズアップされている。国内の院内感染菌は、1970年代までは緑膿菌が主流であったが、1980年以降はMRSAが院内感染菌の首位を占めるようになった。MRSAは抗生物質に抵抗性を示すため、特に対策を要する病原菌である。

[0004] 流動食に抗菌作用があれば易感染者への感染防御手段の一つとなりうるが、これまでに流動食の抗菌作用について報告はない。

非特許文献1: Goepfert, J.M., Chung, K.C., Behavior of salmonellae in sliced luncheon meats, *Appl Microbiol*, 19, 190-192, 1970

非特許文献2: 中江悦郎著、乳・肉・卵の科学、弘学出版、p132-137、1996

非特許文献3: Kawai Y., Saito, T., Kitazawa, H., and Itoh T., *Biosci. Biotech. Biochem.* 62, 22438-40, 1998

非特許文献4: Shah, N.P.: Some beneficial effects of probiotic bacteria, *Bioscience Microflora*, 19, 2, 99-106, 2000

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、感染防御手段となり得る抗菌活性を有する組成物の提供を課題とする。

課題を解決するための手段

[0006] 上記課題を解決すべく、本発明者らは酸性流動食に着目した。流動食は中性に調製されるのが通常であるが、本発明者らが着目した酸性流動食はタンパク質源として乳発酵製品を含むために、酸性となっている。本発明者らが酸性流動食の抗菌作用を検討したところ、大腸菌や緑膿菌等のグラム陰性菌に対し、優れた抗菌性を示した。さらにグラム陽性菌に対する効果を検討したところ、驚くべきことに、該酸性流動食はグラム陽性菌に対し、原料である乳発酵製品よりも著しく強い抗菌作用を示した。

[0007] 微生物が酸性環境に弱いことは周知である。微生物の生育に対する酸の阻止作用は水素イオン濃度に依存し、同じpHの場合は塩酸や硫酸などの無機酸よりも、乳酸や酢酸などの有機酸の方が強い抗菌作用が示すともいわれている。サルモネラ菌の場合、酢酸やプロピオン酸での生育可能な最低pHはpH5.4、乳酸ではpH4.4との報告がある。(非特許文献1)。

[0008] また、ヨーグルトなどの発酵乳に抗菌作用があることは既に知られている。乳酸菌の生成する抗菌性物質として、乳酸の他に、複製する少量の揮発性脂肪酸(酢酸、蟻酸)、過酸化水素、 β -ヒドロキシプロピオンアルデヒド(ロイテリン)、2-ピロリドン-5-カウボン酸などの一群の低分子量化合物が挙げられる(非特許文献2)。乳酸菌の生成するバクテリオシンとしてLactococcus lactis subsp.lactisが生成するナイシン、Lactobacillus gasseri LA-39が生成するガセリシンAなどが知られている(非特許文献3)。乳酸菌の持つプロバイオティクス効果として、腸管上皮への病原菌付着抑制効果、抗菌物質産生による感染症の治療・予防効果、腸内環境整備やマクロファージ活性化による宿主免疫能刺激効果、下痢・便秘予防効果が知られている(非特許文献4)。

[0009] しかし上述の公知知見をもってしても、発酵乳製品を用いて調製された組成物が、原料よりも著しい抗菌力を有することは、全くの予想外である。すなわち、本発明は抗菌作用を有する組成物に関し、具体的には下記のとおりである。

(1)発酵乳製品を用いて調製される組成物であって、糖質、タンパク質、および脂質を含み、エネルギー比率が糖質50～70%、タンパク質4～25%、脂質20～30%であり

、且つpH4.6以下である、抗菌性組成物、

(2)該発酵乳製品が発酵乳及び／またはナチュラルチーズである、上記(1)に記載の抗菌性組成物、

(3)該組成物100ml中乳酸量が200mg以上である、上記(1)または上記(2)に記載の抗菌性組成物、

(4)該組成物100ml中乳酸量が300mg以上である、上記(1)または上記(2)に記載の抗菌性組成物、

(5)表1、表3または表5のいずれかに記載の配合組成からなる、上記(1)から上記(4)のいずれかに記載の抗菌性組成物、

(6)発酵乳製品を原料に用い、糖質、タンパク質、脂質、ビタミン類およびミネラル類を含む組成物において、該発酵製品を予め溶解し、安定剤を添加後、他の原料と混合、均質化し、殺菌することを特徴とする、抗菌性組成物の製造方法、

(7)該発酵乳製品が発酵乳及び／またはナチュラルチーズである、上記(6)に記載の抗菌性組成物の製造方法、

(8)該発酵乳製品由来のタンパク質が、該組成物中のタンパク質の30重量%以上の割合となるように調製されることを特徴とする、上記(6)または上記(7)に記載の抗菌性組成物の製造方法、

(9)該発酵乳製品由来のタンパク質が、該組成物中のタンパク質の70重量%以上の割合となるように調製されることを特徴とする、上記(6)または上記(7)に記載の抗菌性組成物の製造方法。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]酸性流動食、中性流動食及び発酵乳調製液に大腸菌、緑膿菌を添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試料1mlあたりの生菌数を示した図である。

[図2]酸性流動食、中性流動食及び発酵乳調製液に虫歯菌、黄色ブドウ球菌、MRSAを添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試料1mlあたりの生菌数を示した図である。

[図3]中性流動食に乳酸、酢酸、クエン酸を添加しpH4に調製した試料に大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、MRSAを添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試

料1mlあたりの生菌数を示した図である。

[図4]中性流動食に乳酸を0.125、0.25、0.5、1ml添加し、pH4-6.1に調製した試料に大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、MRSAを添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試料1mlあたりの生菌数を示した図である。

[図5]酸性流動食、中性流動食及び発酵乳調製液にピロリ菌またはディフィシル菌を添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試料1mlあたりの生菌数を示した図である。

[図6]中性流動食に乳酸を0.125、1ml添加し、pH4またはpH6.1に調製した試料にディフィシル菌を添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試料1mlあたりの生菌数を示した図である。

[図7]酸性流動食、酸性流動食2、中性流動食及び発酵乳調製液にMRSAまたはディフィシル菌を添加し、培養開始から3、6、24時間後、採取した試料1mlあたりの生菌数を示した図である。

発明を実施するための最良の形態

[0011] 本発明は、抗菌性組成物(以下、本発明の組成物)を提供する。本発明者らは、酸性流動食の抗菌作用を確認し、特にグラム陽性菌に対して優れた抗菌作用を見出したことに基づく。本発明の組成物は、酸性を示す。好ましくはpH 4.6以下である。より好ましくはpH4.2未満、最も好ましくはpH4.0未満である。

[0012] 本発明の組成物は、糖質、タンパク質、脂質、ビタミン類およびミネラル類を含む。本発明の組成物に用いることのできる糖質としては、食用可能である限り制限はないが、例えば、ハチミツ、デキストリン、ショ糖、パラチノース、ブドウ糖、グラニュー糖、果糖、水飴、糖アルコール(ソルビトール、キシリトール、マルチトールなど)等を例示することができる。本発明の組成物に用いることのできるタンパク質は、食用可能である限り制限はないが、例えば、カゼイン、乳清タンパク質などの乳由来タンパク質、大豆タンパク質、これらタンパク質のトリプシン、ペプシンなどの動物由来酵素およびニュートラーゼ、アルカラーゼによる加水分解物を例示することができる。本発明の組成物に含むことのできる脂質は、食用可能である限り制限はない。例えば、第1価飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸を含むヒマワリ油、ナタネ油、オリーブ油、サフラン油

に加え、コーン油、大豆油、パーム油、エゴマ油、アマニ油、シソ油、月見草油、パーム核油、やし油等の各種植物由来油脂、中鎖脂肪酸、EPA、DHA、大豆由来リン脂質、乳由来リン脂質などを例示することができるが、1種類以上の植物由来油脂を含むことが好ましい。また、本発明においては、二重結合2個以上を有する多価不飽和脂肪酸を、油脂の脂肪酸組成中10%以上、好ましくは20%以上、より好ましくは25%以上の割合で含む。また本発明の組成物が含むことのできるビタミン類は特に制限はなく、公知ビタミン類のいずれであってもよい。本発明の組成物が含むことのできるミネラル類は、一般的に食品に添加されるものであればいずれでもよいが、例えば、リン酸カリウム、炭酸カリウム、塩化カリウム、塩化ナトリウム、乳酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、パントテン酸カルシウム、カルシウムカゼイネート、塩化マグネシウム、クエン酸、硫酸第一鉄、炭酸水素ナトリウム、ピロリン酸ナトリウム、アスコルビン酸ナトリウムを含むことができる。糖質、タンパク質、脂質、ビタミン類およびミネラル類のいずれについても、組成物の抗菌性が維持される限り、上記具体例に限らず他の成分を含むことができる。

[0013] 本発明の組成物は、上記糖質、タンパク質、脂質を、エネルギー比率が糖質50～70%、タンパク質4～25%、脂質20～30%で含む。エネルギー比率の算出において、食物繊維は糖質には含まれない。エネルギー比率は、以下のようにして求めることができる。

$$\text{タンパク質エネルギー比率} = \text{タンパク質 (g)} \times 4 \text{ (kcal/g)} \div \text{総エネルギー量 (kcal)} \times 100$$

$$\text{脂質エネルギー比率} = \text{脂質量 (g)} \times 9 \text{ (kcal/g)} \div \text{総エネルギー量 (kcal)} \times 100$$

$$\text{糖質エネルギー比率} = \text{糖質 (g)} \times 4 \text{ (kcal/g)} \div \text{総エネルギー量 (kcal)} \times 100$$

$$\text{または糖質エネルギー比率} = \{\text{総エネルギー量 (kcal)} - (\text{タンパク質エネルギー量 (kcal)} + \text{脂質エネルギー量 (kcal)} + \text{食物繊維エネルギー量 (kcal)})\} \div \text{総エネルギー量 (kcal)} \times 100$$

食物繊維のエネルギー量は、日本食品標準成分表(日本国大蔵省印刷局発行)、またはエネルギー換算係数(平成13年厚生労働省告示第98号)に基づき計算することができる。また、糖質量、タンパク質量、脂質量の測定は、当業者に周知の方法に

よって行うことができる。好ましくは、日本食品標準成分表の記載にしたがって行う。食物纖維量の測定は、上記日本食品標準成分表に記載されたプロスキー変法(酵素-重量法)またはHPLC法を組み合わせた方法(AOAC Official Methods of Analysis (2002))によって行うことができる。

[0014] 本発明の組成物の好ましい態様としては、該組成物100ml中の乳酸量が200mg以上であり、より好ましい態様としては、該組成物100ml中の乳酸量が300mg以上である。乳酸の定量は、酵素法、HPLC法等の当業者に周知の方法によって行うことができる。または、有機酸の定量法を記載した文献:J Nutr.,Jan,124(1),52-60,1994年「Galactosylsucrose and xylosylfructoside alter digestive tract size and concentrations of cecal organic acids in rats fed diets containing cholesterol and cholic acid」に基づいて行うことができる。

[0015] 本発明の組成物は、発酵乳製品を用いて調製される。本発明における発酵乳製品とは、牛乳、水牛乳、ヤギ乳、羊乳、馬乳等の家畜乳および／またはこれらの部分脱脂乳、脱脂乳、還元全乳、還元脱脂乳、還元部分脱脂乳、バター、クリーム等の乳原料を1種または2種以上組み合わせて調製した液状乳を乳酸菌等のスターターを用いて発酵させたもの全般をいう。例えば、ナチュラルチーズ、ヨーグルト、発酵乳、乳清(ホエー)、ホエーチーズは、本発明における発酵乳製品に含まれる。また、本発明におけるチーズとは、乳、バターミルクもしくはクリームを乳酸菌で発酵させ、または乳、バターミルクもしくはクリームに酵素を加えてできた凝乳から乳清を除去したものもいい、固形化や熟成の有無について問わない。発酵乳製品を製造するためのスターターとしては、*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*を主に用いることができるが、これらに限られず、例えば、*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetilactis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosa*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*などの乳酸菌やビフィズス菌を用いることができる。その他、*プロピオニバクテリウム属菌*(*Propionibacterium*)等、

発酵乳製品の製造に用いられている菌を併用することができる。本発明の組成物は、発酵乳製品であればいずれを用いて調製してもよい。好ましくは、非熟成チーズまたはヨーグルトを用い、より好ましい態様としては、クワルク(quark)またはヨーグルトを用いて調製する。

[0016] クワルクは、非熟成型(フレッシュ)チーズの一種であり、脂肪含量が低く、爽やかなフレーバーと酸味が特徴である。クワルクの一般的な製造法を以下に説明する。脱脂乳を殺菌する。乳酸菌スター(主にLactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus)を0.5~5%接種し発酵させる。pH 4.6に達するとカードが形成される。クワルクセパレーターにかけホエーを分離し、得られたカードを冷却する。クワルクの組成の一例は、全固形分17~19%、タンパク質11~13%、脂肪1%>、炭水化物2~8%、乳糖2%>である。その他、レンネットを使用して凝固させたものも、本発明のクワルクに含まれる。また、ラクトコッカスに属するラクチス菌・クレモリス菌とロイコノストック属の菌種の混合培養を脱脂乳に添加、培養し、ホエイを除去してクワルクとすることができます。また、上記方法と同様にして得られたカードをカッターで切断し、加温しながらホエーを分離して得られる非熟成チーズも本発明で使用することができる。

[0017] 本発明の組成物は、上記発酵乳製品と上述した糖質、タンパク質、脂質を混合し、均質に混合して調製する。好ましくは、該発酵乳製品由来のタンパク質が該組成物中のタンパク質の30重量%以上の割合となるように、より好ましくは、該組成物中のタンパク質の70重量%以上の割合となるように調製する。本発明の組成物を流動食として調製する場合は、1mlあたり0.7~2kcalとなるように調製することが望ましい。また混合の際に、ビタミン類やミネラル類、および/または食物纖維を添加してもよい。食物纖維は水溶性食物纖維と不溶性食物纖維とに分けられ、両者のいずれを用いてもよい。水溶性食物纖維としてはペクチン(プロトペクチン、ペクチニン酸、ペクチン酸)、グーガム加水分解物、グルコマンナン、ガラクトマンナン、サイリウム、コーンファイバー、アルギン酸、アルギン酸分解物、カラアギナン、難消化性デキストリンなどを含むことができる。不溶性食物纖維としては結晶セルロース、ビートファイバー、小麦ふすま等を例示することができる。好適には、ペクチン、グーガム加水分解物、難消化性デキストリンを用いることができる。さらに、場合によっては、香料やその他の

配合物を添加することもできる。

[0018] 混合後に容器に充填し、必要に応じて加熱殺菌処理を施し、流動食または経腸栄養剤とすることができる。本発明の抗グラム陽性菌組成物は酸性であることから、加熱処理は通常よりも緩やかな条件で行うことができる。例えば、中性流動食の加熱殺菌処理はレトルト殺菌条件120–130°C、20–40分、間接殺菌条件140–145°C、4–10秒のところ、本発明組成物は80–90°Cで15–30分のレトルト殺菌または95–110°Cで20–60秒の間接殺菌が可能である。緩やかな殺菌条件により、風味を良くすることや、熱に弱い成分の配合も可能である。また、本発明の組成物を寒天やゼラチンによりゲル状とすることや、スプレードライ等により顆粒状食品・医薬品とすることや、さらには固形の食品・医薬品とすることも可能である。

[0019] 本発明の組成物は、グラム陰性菌、グラム陽性菌の双方に抗菌効果を有する。特にグラム陽性菌に対しては、優れた効果を発揮する。乳酸菌発酵物の抗菌力は一般に知られるところであるが、グラム陽性菌に対し本発明の組成物は、原料である発酵乳製品よりも優れた抗菌効果を有する。このグラム陽性菌に対する優れた抗菌効果は、発酵乳製品を糖質、タンパク質、脂質等と組み合わせ本発明の組成物としたことによって得られる効果である。発酵乳製品を本発明の組成物に加工することによりこのような効果が得られることは、本発明者らが初めて見出した。本発明者らは、実施例に示すように、黄色ブドウ球菌、MRSA、虫歯菌、ディフィシル菌への上記効果を確認した。他のグラム陽性菌、例えば、レンサ球菌(*Genus Streptococcus*)、腸球菌(*Genus Enterococcus*)、コリネバクテリウム(*Corynebacterium*)、バシラス(*Bacillus*)、ボツリヌス菌(*C. botulinum*)等にも、抗菌性を期待できる。本発明の組成物は、上述の抗菌力をを持つことを特徴とするが、好ましくは、黄色ブドウ球菌、MRSA、虫歯菌、ディフィシル菌に対する抗菌力を実施例の方法で測定した場合において、培養24時間後の生菌数が 2.3×10^2 CFU(colony forming unit)／ml以下である抗菌力、最も好ましくは培養24時間後のコロニー数が10未満である抗菌力を有する。

[0020] 本発明の組成物は、抗菌効果、特に抗グラム陽性菌効果を有する流動食または経腸栄養剤として利用することができる。流動食または経腸栄養剤自体が抗菌効果を

有するため、単なる食品としてではなく感染予防目的で使用することができる。感染予防のため用いること、抗菌力を有すること、またはグラム陽性菌に対する抗菌力が優れていること等を付した食品として、例えば特定保健用食品、栄養機能食品などの保健機能食品として用いることができる。高齢者や病院入院患者等の多い施設では、院内感染・施設内感染の有効かつ安全な予防手段になると考えられる。乳幼児向けの抗菌性ベビーフード、一般向けの抗菌性栄養食品としても利用でき、さらには、整腸作用を持つ栄養補助医薬品や虫歯予防用食品として利用することも考えられる。

なお、本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本明細書に組み入れられる。

実施例

[0021] 以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もとより、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

[0022] [実施例1]酸性流動食による抗菌作用の検討(1)

病原菌に対する酸性流動食の抗菌作用を検討した。試験菌として、Escherichia coli IFO 3972 (大腸菌)、Staphylococcus aureus subsp. aureus IFO 12732 (黄色ブドウ球菌)、Pseudomonas aeruginosa NBRC 13275 (緑膿菌)、Staphylococcus aureus 11D 1677 (MRSA)、Streptococcus mutans IFO 13955 (虫歯菌)を用いた。虫歯菌はトリプトソイ寒天培地(栄研化学社製)を用い、他の試験菌は普通寒天培地(栄研化学社製)を用いて培養後、得られた菌体を滅菌生理食塩水に懸濁し、1mlあたりの菌数が約 10^8 – 10^9 となるように調製し、菌液とした。酸性流動食は、表1に示す配合により調製した酸性流動食を用い、対照に表2に示す組成の中性流動食(メイバランス、明治乳業(株))と発酵乳調製液を使用した。発酵乳調製液は、クワルク(発酵乳製品)に無菌蒸留水を添加し、表1に示す配合により調製した上記酸性流動食中のクワルク濃度(33g/100ml)と同じ濃度に調製した。100°C、10分の熱処理を行って乳酸菌を殺菌して使用した。なお、クワルクの製造法は以下の通りである。まず、脱脂乳に対し1%の乳酸菌スター(Lactobacillus bulgaricus 及び Streptococcus thermophilus の混合スター)を接種し、35°Cで16時間発酵を行った。得られたカードをクワル

クセパレーターにかけ、ホエーを分離することで、タンパク質約13%、脂質0.3%、糖質約5%、全固体分約19%のクワルクを得た。また、調整油脂は、パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等の脂肪酸を含み、脂肪酸組成中、二重結合を有する脂肪酸の割合が25%、n-6/n-3が7.4%である。

[表1]

原料	配合量(100ml)
発酵乳製品	33.4g
蜂蜜	8g
デキストリン	6.1g
ショ糖	1g
難消化性デキストリン	0.61g
ペクチン	0.75g
調整油脂	2.6g
大豆レシチン	0.13g

[0023] 酸性流動食または対照100ml中に、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、MRSA、または虫歯菌を1ml添加し、37°Cで培養した。培養開始3,6,24時間後、サンプリングを行い、寒天培地で培養し生菌数を測定した。生菌数の測定は以下のとおり行った。試料をSCDLP培地(日本製薬社製)で適宜希釀し、SCDLPA培地(日本製薬社製)を用いた混釀平板培養法により、35°Cで2日間培養し、発育したコロニー数を計測した。対照には、滅菌生理食塩水を用いた。

[0024] 結果を図1,2に示す。酸性流動食は各菌種のいずれにも増殖抑制効果を示したが、各菌種への抗菌効果は予想外に興味深いものであった。発酵乳調製液中で培養された大腸菌の生菌数(コロニー数)は、培養開始時:20,000,000、培養3時間後:8,000,000、培養6時間後:2,500,000、培養24時間後:検出限界以下であったのに対し、一方、酸性流動食中で培養された大腸菌の生菌数は、培養開始時:20,000,000、培養3時間後:3,400,000、培養6時間後:83,000、培養24時間後:検出限界以下(本実施例において検出限界以下とは生菌数が10未満を意味する。以下同様。)であった。また発酵乳調製液中で培養された緑膿菌の生菌数(コロニー数)は、培養開始時:2,000,000、培養3時間後および6時間後:検出限界以下であったのに対し、一方

、酸性流動食中で培養された綠膿菌の生菌数は、培養開始時:2,000,000、培養3時間後および6時間後:検出限界以下であった。すなわち、大腸菌グラム陰性菌である大腸菌、綠膿菌についての酸性流動食による増殖抑制作用は発酵乳調製液と同程度であった。このことから酸性流動食による上記各菌に対する抗菌作用は、主として発酵乳製品由来成分による作用によると思われる。中性流動食中では、培養時間と共に、各菌の増殖が促進された(図1)。また、市販されている他の中性流動食についても抗菌作用を検討したが、メイバランスと同様に抗菌作用は認められなかった(データ示さず)。一方、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌、MRSA、虫歯菌についての結果は、酸性流動食による増殖抑制効果は発酵乳調製液よりも顕著に強いことが示された(図2)。発酵乳調製液中で培養された黄色ブドウ球菌(コロニー数)の生菌数は、培養開始時:18,000,000、培養3時間後:7,500,000、培養6時間後:1,000,000であったのに対し、一方の酸性流動食中で培養された黄色ブドウ球菌の生菌数は、培養開始時:18,000,000、培養3時間後:12,000,000、培養6時間後:2,100,000であり、ついに培養24時間後には検出限界以下となった。また、発酵乳調製液中で培養された虫歯菌(コロニー数)は、培養開始時:9,000,000、培養3時間後:2,900,000、培養6時間後:400,000、培養24時間後:1,300であったのに対し、酸性流動食で培養された虫歯菌は、培養開始時:9,000,000、培養3時間後:430,000であり、早くも培養6時間後には検出限界以下となった。このように酸性流動食は、グラム陰性菌、グラム陽性菌のいずれにも抗菌作用を有するのみならず、特にグラム陽性菌に対しては、原料である発酵乳製品の持つ抗菌作用をはるかにしのぐ抗菌作用を有することが明らかになった。

[0025] [実施例2]有機酸による抗菌作用の検討

酸性流動食の抗菌作用が確認されたことから、酸性流動食の成分組成について調べた。中性流動食、酸性流動食、発酵乳調製液の組成を表2に示す。中性流動食にはpH調製用にクエン酸が含まれているがその他の有機酸はほとんど含まれていない。発酵乳調製液には乳酸発酵による乳酸が405.1mg/100ml含まれていた。酸性流動食には発酵乳調製液よりも約2倍の乳酸が含まれていたが、これは、流動食として必要なカルシウム量を確保する目的で乳酸カルシウムが添加されているためである。酸

性流動食と発酵乳調製液には、乳酸以外の主要有機酸として、クエン酸、酢酸が多く含まれている(表2)。

[0026] [表2]

	成分	中性流動食	酸性流動食	発酵乳調製液	単位(100ml中)
一般組成	蛋白質	4.0	4.0	4.0	g
	脂質	2.8	2.8	0.0	g
	炭水化物	15.7	16.1	1.6	g
	灰分	0.8	0.7	0.3	g
	カロリー	100.0	100.0	22.4	Kcal
有機酸	乳酸	0.0	838.8	405.1	mg
	酢酸	1.3	8.5	5.3	mg
	クエン酸	126.2	172.9	64.0	mg
	蟻酸	1.9	1.9	0.4	mg

[0027] 酸性流動食と発酵乳製品に含まれる主要有機酸について、抗菌作用を検討した。試験菌、菌液の調製は、上述の、酸性流動食の抗菌作用の検討の際と同様にした。被験試料として乳酸1ml、酢酸2.3ml、またはクエン酸1gのいずれか(和光純薬工業(株))を中性流動食に添加して、pH4に調製した。また、酸性流動食の主要有機酸である乳酸については、乳酸の量を変化させて中性流動食に添加して試料を調製し、抗菌作用を検討した。

[0028] 中性流動食に、発酵乳調製液に含まれる有機酸を表2と同量(乳酸:405.1mg、酢酸:5.3mg、クエン酸:34mg、蟻酸:0.4mg)加えた被験試料のpHは5.1であり、いずれの菌種についても抗菌作用を殆ど示さなかった。乳酸、酢酸のそれぞれを単独で中性流動食に添加してpH4に調製した試料では、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、MRSAに対する抗菌作用が観察された(図3)。クエン酸添加試料の上記4菌種に対する抗菌作用は、同じpHの乳酸または酢酸添加試料と比較して弱いものであった(図3)。一方、酸性流動食及び発酵乳調製液の主要有機酸である乳酸を単独で中性流動食に添加した試料では、0.5ml添加(pH4.8)では殆ど抗菌作用が認められなかつたが、pH4に調製したときは大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌に対し顕著な抗菌作用を示した(図4)。

[0029] MRSAに対する抗菌作用については、独特な傾向が得られた。すなわち、MRSAに対する各有機酸の抗菌作用は、酢酸が最も強く、次にクエン酸、乳酸の順であり、発酵乳製品の主な有機酸である乳酸の抗菌作用は、検討した有機酸のうち最も効果が

弱かった。酸性流動食は発酵乳調製液と比較してMRSAに対する抗菌作用が顕著であることから、酸性流動食によるMRSA抗菌作用には発酵乳製品成分以外の成分が関与していると考えられる。

[0030] [実施例3]酸性流動食による抗菌作用の検討(2)

上述のとおり、各種細菌に対する酸性流動食の抗菌作用が確認されたが、さらに、*Helicobacter pylori* ATCC43504(ピロリ菌)および*Clostridium difficile* JCM1296(ディフィシル菌)に対する抗菌作用を検討した。ピロリ菌はグラム陰性菌であり、ディフィシル菌はグラム陽性菌である。ピロリ菌に対する抗菌作用の検討は、以下のように行った。まず、羊血液寒天培地(栄研化学社製)を用い、35°Cで3日間微好気培養した後、滅菌生理食塩水に懸濁し、1mlあたりの菌数が約 10^7 ～ 10^8 となるように調製し、菌液とした。酸性流動食4.5mlおよび対照として滅菌生理食塩水、5%ウマ血清加ブルセラプロス4.5mlにピロリ菌を0.5ml添加し、35°C、微好気条件下、培養した。培養開始後、3, 6, 24時間後、サンプリングを行い、生菌数を測定した。生菌数の測定は、以下のとおり行った。試料を滅菌生理食塩水で適宜希釈し、羊血液寒天培地(栄研化学社製)に塗沫した。35°Cで5日間微好気条件下、培養した後、発育したコロニー数を計測した。また、ディフィシル菌に対する抗菌作用の検討は、以下のように行った。ディフィシル菌は、GAM寒天培地(日本製薬社製)を用い、37°Cで15日間嫌気培養後、滅菌生理食塩水に懸濁し、1mlあたりの菌数が約 10^8 ～ 10^9 となるように調製し、菌液とした。酸性流動食及び対照100ml中に菌液を1ml添加し、37°C、嫌気条件下、培養した。培養開始後、3, 6, 24時間後、サンプリングを行い、生菌数(嫌気性細菌数)を測定した。ディフィシル菌生菌数の測定は、次の通り行った。試料をSCDLP培地(日本製薬社製)で適宜希釈し、嫌気性細菌数を、GAM寒天培地(日本製薬社製)を用いた混釀平板培養法により、35°C、5～6日間嫌気条件下、培養した後、発育したコロニー数を計測した。

[0031] 結果を図5に示す。グラム陰性菌であるピロリ菌に対しては、酸性流動食は優れた抗菌力を有することが示され、その抗菌力の程度は、発酵乳調製液と一致した。一方、グラム陽性菌であるディフィシル菌に対しては、酸性流動食は発酵乳調製液よりも極めて高い抗菌力を示した。これらの結果は、上記実施例で得られた結果と同じ傾

向である。

さらに上記実施例2と同様に、中性流動食に乳酸を添加してディフィシル菌に対する抗菌力を検討したところ、乳酸0.125ml添加(pH6.1)では殆ど抗菌力が見られなかったが、乳酸1ml添加では、抗菌作用が確認された(図6)。

[0032] [実施例4]組成の異なる酸性流動食の抗菌力の検討

表3の配合に基づき、上記酸性流動食と組成の異なる酸性流動食(以下、「酸性流動食2」とする)を調製し、該酸性流動食2のグラム陽性菌に対する抗菌力について、検討した。酸性流動食2の組成を表4に示す。

[0033] [表3]

原料	配合量(100ml)
発酵乳製品	22.7g
ホエイタンパク加水分解物	1.42g
パラチノース	5.6g
デキストリン	5.2g
マルトデキストリン	1.9g
難消化性デキストリン	1.04g
ペクチン	0.45g
調整油脂	3.0g
リン脂質	0.1g
大豆レシチン	0.16g

[0034] [表4]

	成分	酸性流動食2	単位(100ml中)
一般組成	蛋白質	4.2	g
	脂質	3.0	g
	炭水化物	14.1	g
	灰分	0.8	g
	カロリー	100.0	Kcal
有機酸	乳酸	405.1	mg
	酢酸	5.3	mg
	クエン酸	388.0	mg
	蟻酸	1.9	mg

[0035] 上記酸性流動食と同様の方法で試験を実施したところ、発酵乳調製液中で培養したMRSAの生菌数は、培養開始時:7,700,000、培養3時間後:4,900,000、培養6時間後:4,600,000、培養24時間後:920,000であったのに対し、酸性流動食2の中で培

養したMRSAの生菌数は、培養開始時:7,700,000であったのが、早くも培養3時間後:5,600となり、培養6時間後:70、ついに培養24時間後:検出限界以下となった。また、発酵乳調製液中で培養したディフィシル菌の生菌数は、培養開始時:9,100,000、培養3時間後:10,000,000、培養6時間後:7,000,000、培養24時間後:220,000であったのに対し、酸性流動食2の中で培養したディフィシル菌の生菌数は、培養開始時:12,000,000、培養3時間後:9,300,000、培養6時間後:1,400,000と激減し、ついに培養24時間後には検出限界以下となった。実施例1の酸性流動食でディフィシル菌を培養した場合も、培養開始時:9100,000、培養3時間後:2400000、培養6時間後:44000と激減傾向を示し、培養24時間後に検出限界以下となった。上記のとおり、酸性流動食2によるMRSAおよびディフィシル菌に対する抗菌力の傾向および程度は、実施例1、2で検討した上記酸性流動食とほぼ一致した(図7)。

さらに別の酸性流動食として、表5に示す配合により酸性流動食3を調製した。本実施例の酸性流動食、酸性流動食2、酸性流動食3のエネルギー比率を表6に示す。

[0036] [表5]

原料	配合量(100ml)
発酵乳製品	15.3g
蜂蜜	7.5g
デキストリン	16g
ショ糖	1.5g
難消化性デキストリン	0.61g
ペクチン	0.75g
調整油脂	2.6g
大豆レシチン	0.13g

[0037] [表6]

	成分	酸性流動食1	酸性流動食2	酸性流動食3	単位
一般組成	蛋白質	16	17	7	%
	脂質	24	27	24	%
	糖質	58	55	67	%
有機酸	乳酸	838.8	405.1	188.4	mg
	酢酸	8.5	5.3	2.5	mg
	クエン酸	172.9	388.0	380	mg
	蟻酸	1.9	1.9	0.2	mg

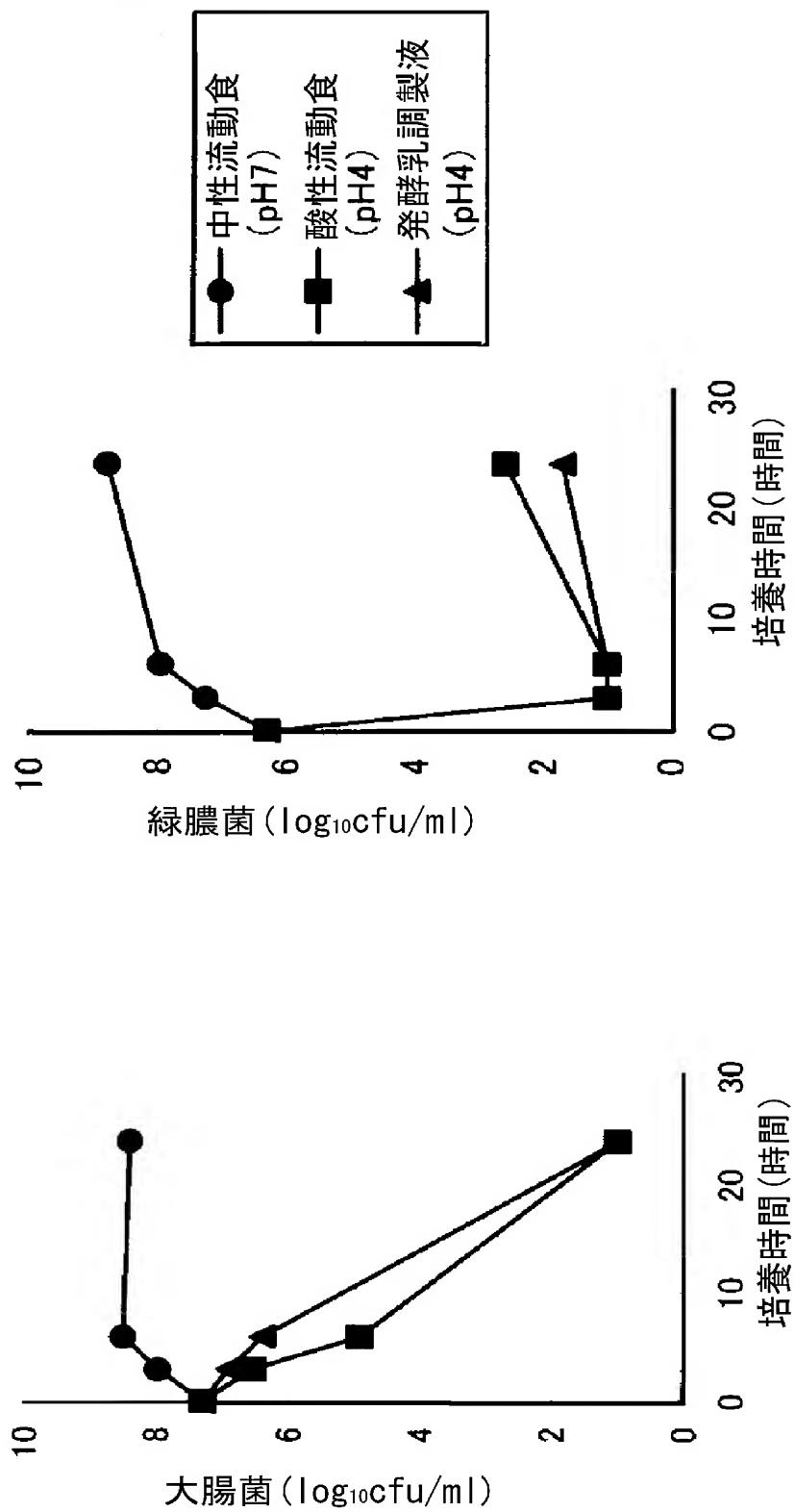
産業上の利用可能性

[0038] 本発明により、新たな抗菌性組成物が提供された。本発明の組成物は、特にグラム陽性菌に対する効果が高い。本発明の組成物は、流動食または経腸栄養剤として利用することにより、高齢者等の易感染者に対し、抗生物質以外の感染防御手段となり得る。流動食自体が抗菌作用を有することから、カテーテル等を通じた院内感染の防止には簡便で有効な方法ということができる。特に、日和見感染の代表的起因微生物であるMRSA等、衛生上重要な菌種がグラム陽性菌であることを考慮すると、抗グラム陽性菌組成物である本発明の組成物は、実用性が高い。また、本発明組成物は、発酵乳製品を含んでいることから、腸管上皮への病原菌付着抑制効果、抗生物質産生による感染症の治療・予防効果、腸内環境整備やマクロファージ活性化による宿主免疫能刺激効果、下痢・便秘予防効果等の乳酸菌の持つプロバイオティクス効果をも期待できる。本発明の組成物は経口の抗菌性食品または医薬品としてもでき、栄養上かつ保健衛生上、極めて有用である。

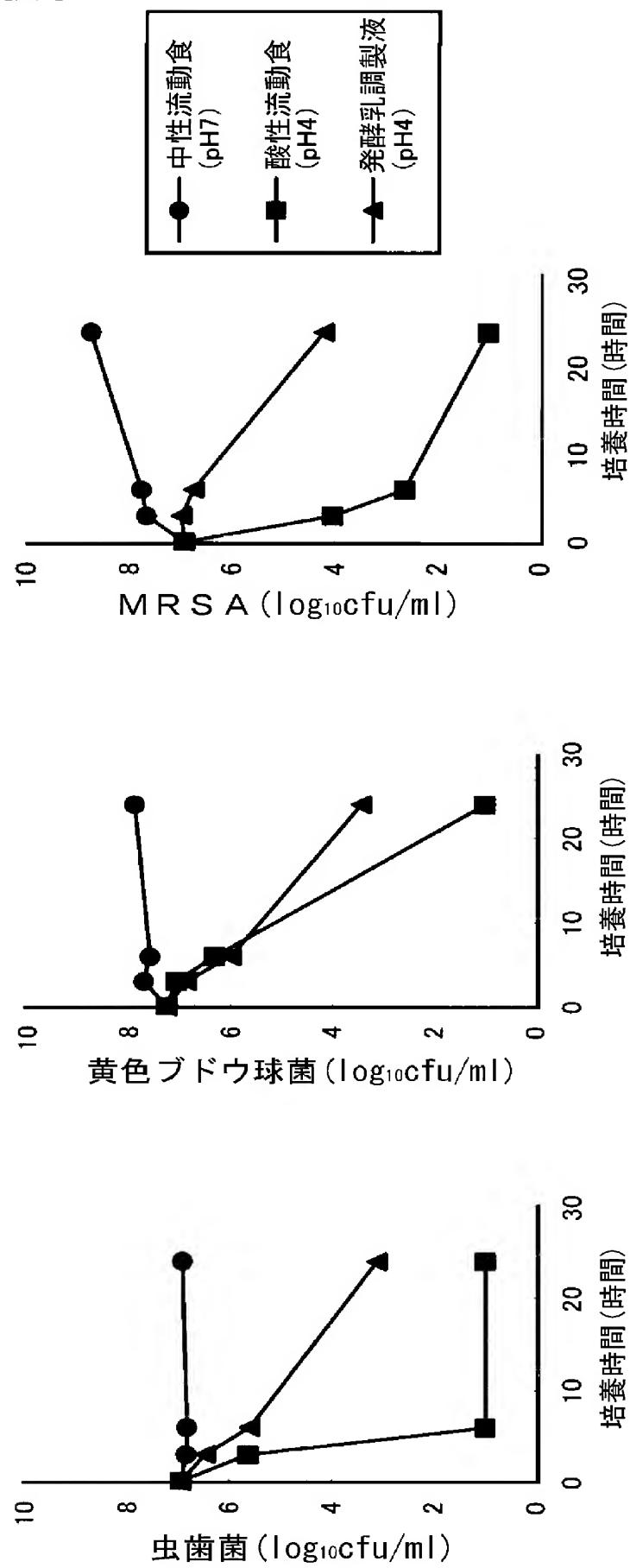
請求の範囲

- [1] 発酵乳製品を用いて調製される組成物であって、糖質、タンパク質、および脂質を含み、エネルギー比率が糖質50～70%、タンパク質4～25%、脂質20～30%であり、且つpH4.6以下である、抗菌性組成物。
- [2] 該発酵乳製品が発酵乳及び／またはナチュラルチーズである、請求項1に記載の抗菌性組成物。
- [3] 該組成物100ml中乳酸量が200mg以上である、請求項1または請求項2に記載の抗菌性組成物。
- [4] 該組成物100ml中乳酸量が300mg以上である、請求項1または請求項2に記載の抗菌性組成物。
- [5] 脂質として植物由来油脂を含む、請求項1から請求項4のいずれかに記載の抗菌性組成物
- [6] 表1、表3または表5のいずれかに記載の配合組成からなる、請求項1から請求項5のいずれかに記載の抗菌性組成物。
- [7] 発酵乳製品を原料に用い、糖質、タンパク質、および脂質を含む組成物において、該発酵製品を他の原料と混合、均質化し、殺菌することを特徴とする、抗菌性組成物の製造方法。
- [8] 該発酵乳製品が発酵乳及び／またはナチュラルチーズである、請求項7に記載の抗菌性組成物の製造方法。
- [9] 該発酵乳製品由来のタンパク質が、該組成物中のタンパク質の30重量%以上の割合となるように調製されることを特徴とする、請求項7または請求項8に記載の抗菌性組成物の製造方法。
- [10] 該発酵乳製品由来のタンパク質が、該組成物中のタンパク質の70重量%以上の割合となるように調製されることを特徴とする、請求項7または請求項8に記載の抗菌性組成物の製造方法。

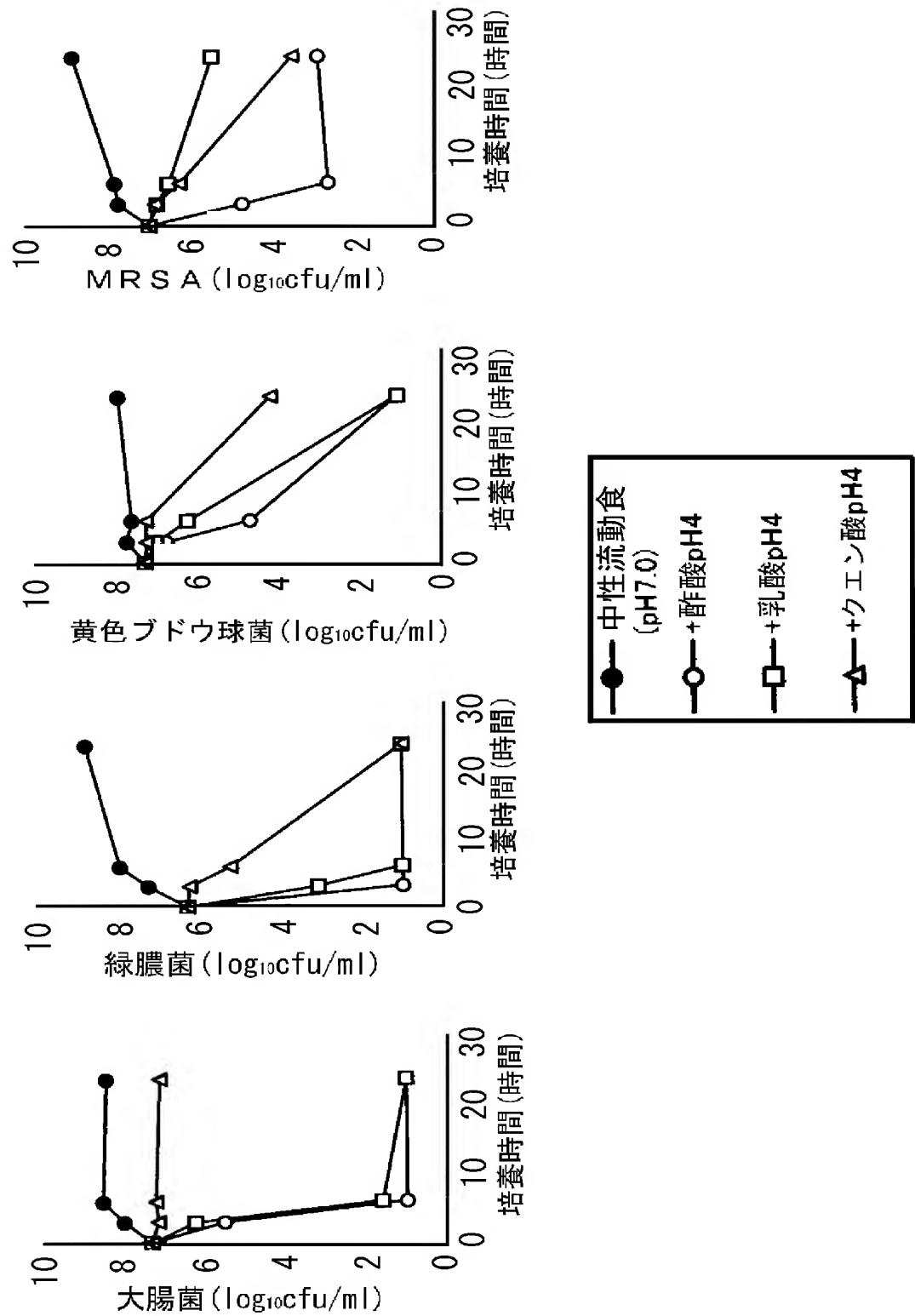
[図1]



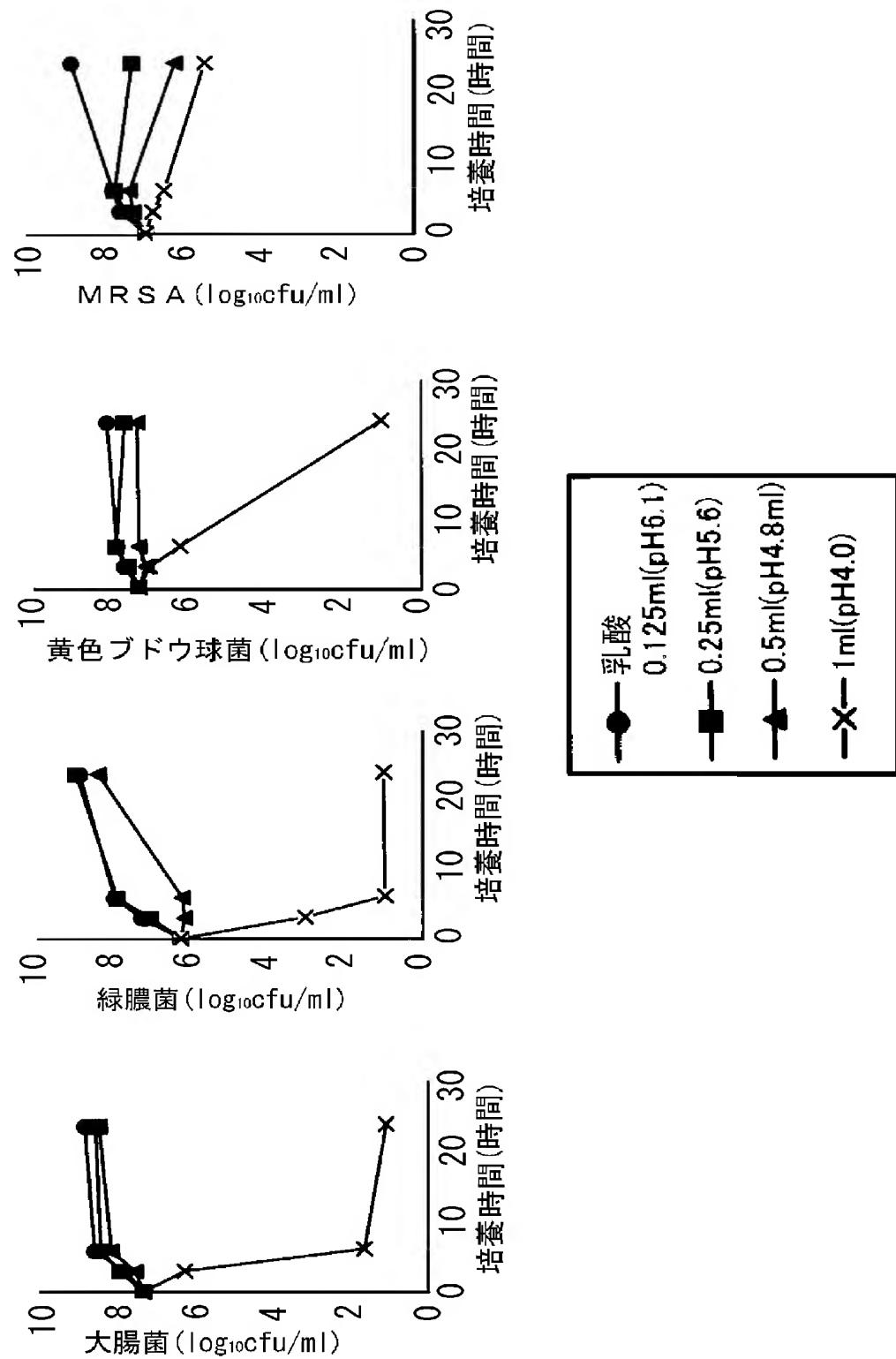
[図2]



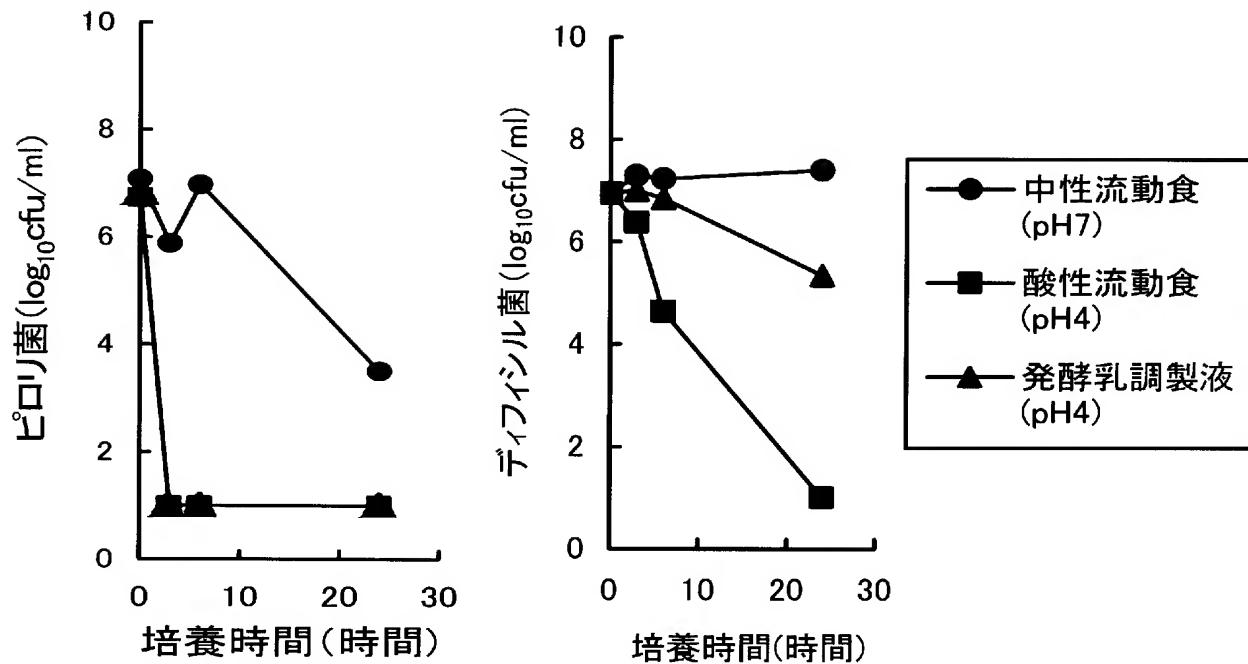
[図3]



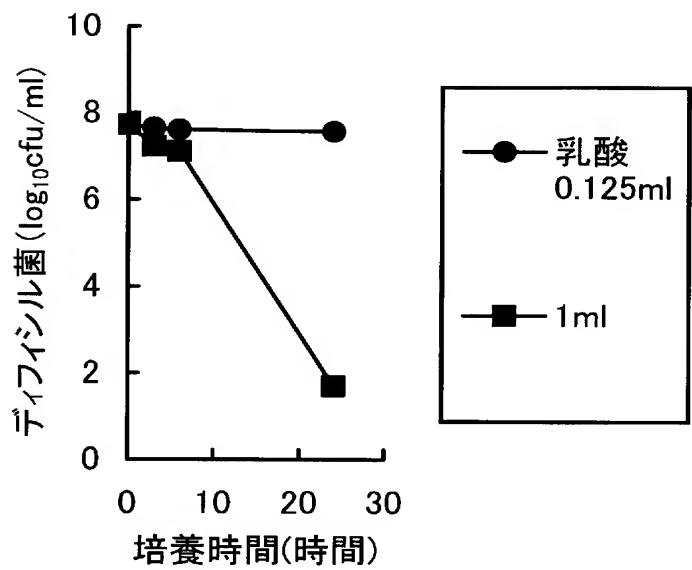
[図4]



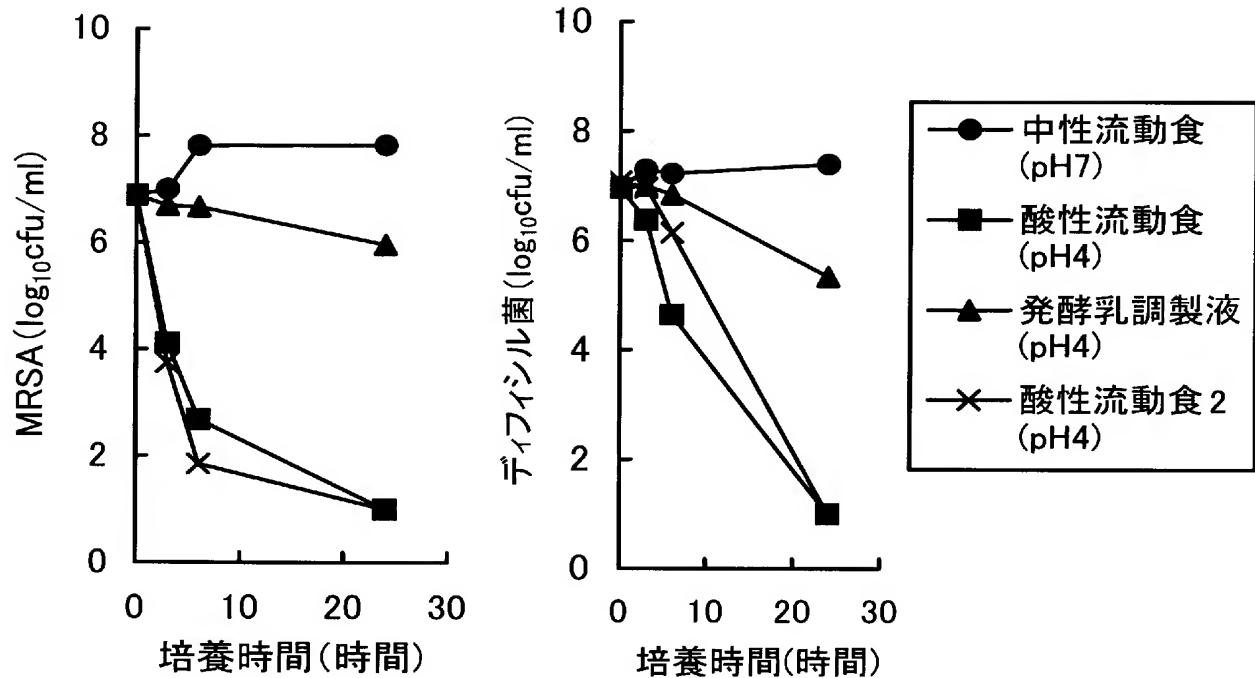
[図5]



[図6]



[図7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006253

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K35/20, A23L1/30, 1/305, A61K35/74, A61P31/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (STN), Caplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), JSTPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Akira SUGAMATA et al., "Atarashii Yogurt-Honey (Y-H) Seizai YH8280 no Shiyo Keiken (Dai 1 Po), Nesso, March, 1984, Vol.9, No.2, pages 25 to 30	1-10
X	JP 59-187734 A (Snow Brand Rolly Kabushiki Kaisha), 24 October, 1984 (24.10.84), Particularly, Claims; page 3, upper right column, line 16 to lower left column, line 8; examples (Family: none)	1-10

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
22 June, 2005 (22.06.05)Date of mailing of the international search report
05 July, 2005 (05.07.05)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006253

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 60-016931 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 28 January, 1985 (28.01.85), Particularly, Claims; page 2, lower left column, line 17 to lower right column, line 12; test examples; examples (Family: none)	1-10
X	JP 64-020057 A (The Calpis Food Industry Co., Ltd.), 24 January, 1989 (24.01.89), Particularly, Claims; page 3, upper left column, lines 12 to 19; page 4, upper left column, line 19 to upper right column, line 5; examples (Family: none)	1-10
X	JP 3-285641 A (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 16 December, 1991 (16.12.91), Particularly, Claims; examples (Family: none)	1-10
X	JP 5-252896 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 05 October, 1993 (05.10.93), Particularly, Claims; preparation examples; examples (Family: none)	1-10
X	JP 6-098717 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 12 April, 1994 (12.04.94), particularly, Claims; preparation examples; examples (Family: none)	1-10
X	JP 9-070256 A (Lion Corp.), 18 March, 1997 (18.03.97), Particularly, Claims; page 3, right column, lines 4 to 15; page 4, right column, lines 31 to 39; examples (Family: none)	1-10
X	JP 7-155103 A (Shikoku Nyugyo Kabushiki Kaisha), 20 June, 1995 (20.06.95), Particularly, Claims; examples; test examples; page 9, left column, line 48 to right column, line 49 (Family: none)	1-10

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int.Cl.⁷ A61K35/20, A23L1/30, 1/305, A61K35/74, A61P31/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int.Cl.⁷

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS(STN), CAplus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(STN), JSTPlus(JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	菅又章等、新しいYogurt-Honey(Y-H)製剤 YH8280の使用経験(第1報), 熱傷, 1984. 3, 第9巻, 第2号, p. 25-30	1-10
X	JP 59-187734 A(雪印ローリー株式会社), 1984. 10. 24, 特に、特許請求の範囲、第3頁右上欄第16行~左下欄第8行及び実施例(ファミリーなし)	1-10
X	JP 60-016931 A(明治乳業株式会社), 1985. 01. 28, 特に、特許請求の範囲、第2頁左下欄第17行~右下欄	1-10

□ C欄の続きにも文献が列挙されている。

□ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 22.06.2005	国際調査報告の発送日 05.7.2005	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 上條 のぶよ 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 9454

C (続き) . 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
X	第12行、試験例及び実施例 (ファミリーなし)	
X	JP 64-020057 A (カルピス食品工業株式会社), 1989.01.24, 特に、特許請求の範囲、第3頁左上欄第12~19行、第4頁左上欄第19行~右上欄第5行及び実施例 (ファミリーなし)	1-10
X	JP 3-285641 A (雪印乳業株式会社), 1991.12.16, 特に、特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-10
X	JP 5-252896 A (明治乳業株式会社), 1993.10.05, 特に、特許請求の範囲、製造例及び実施例 (ファミリーなし)	1-10
X	JP 6-098717 A (明治乳業株式会社), 1994.04.12, 特に、特許請求の範囲、製造例及び実施例 (ファミリーなし)	1-10
X	JP 9-070256 A (ライオン株式会社), 1997.03.18, 特に、特許請求の範囲、第3頁右欄第4~15行、第4頁右欄第31~39行及び実施例 (ファミリーなし)	1-10
X	JP 7-155103 A (四国乳業株式会社), 1995.06.20, 特に、特許請求の範囲、実施例、試験例及び第9頁左欄第48行~右欄第49行 (ファミリーなし)	1-10